COFFRET POUR GROUPAGE DES STREPTOCOQUES

 DR0585A.......................... 50 Tests 

1. DOMAINE D'APPLICATION

Test d'agglutination de particules de latex pour l'identification des streptocoques des groupes A, B, C, D, F et G

Lancefield[1] a montré que la majorité des streptocoques pathogènes possédaient des antigènes spécifiques polysaccharidiques permettant leur classification en groupes. Après extraction, ces antigènes peuvent être recherchés avec des particules de latex sensibilisées par des immunoglobulines spécifiques, qui agglutinent en présence de l'antigène correspondant.

Le coffret OXOID pour groupage des streptocoques est un test d'agglutination de particules de latex permettant l'identification des streptocoques des groupes A, B, C, D, F et G. L'utilisation d'un nouveau système d'extraction enzymatique réduit considérablement le temps nécessaire à l'extraction de l'antigène et augmente sa production, particulièrement pour les streptocoques du groupe D.

REF

Coffrets de 50 tests

DR 586 Latex pour groupe A

DR 587 Latex pour groupe B

DR 588 Latex pour groupe C

DR 589 Latex pour groupe D

DR 590 Latex pour groupe F

DR 591 Latex pour groupe G

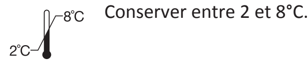
DR 592 Témoin positif polyvalent

DR 593 Enzyme d'extraction

DR 500 Cartes pour agglutination à usage unique

2. DESCRIPTION, PRÉPARATION POUR UTILISATION ET CONDITIONS DE CONSERVATION RECOMMANDÉES

Se référer également au paragraphe **Précautions et restrictions d'emploi.**



Conserver entre 2 et 8°C.

Légende des symboles

REF	Référence de catalogue
IVD	Dispositif médical de diagnostic *in vitro*
LAB	Utilisation en laboratoire
	Consulter le mode d'emploi
2°C – 8°C	Limite de température (température de conservation)
LOT	Code de lot (numéro de lot)
	A utiliser avant (date de péremption)
	Fabricant

3. PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

Usage *in vitro*.

Ne pas congeler les suspensions de latex.

Chaque réactif contient 0,1% d'azoture de sodium (après reconstitution pour le témoin positif et l'enzyme d'extraction).

Réactifs de travail

Les réactifs au latex doivent être utilisés après avoir été ramenés à température ambiante et agités vigoureusement avant emploi afin d'avoir une suspension homogène.

L'enzyme d'extraction doit être reconstituée avec la quantité d'eau distillée indiquée sur l'étiquette. Le contrôle positif contient les antigènes des 6 groupes de streptocoques.

4. INFORMATIONS DE SÉCURITÉ

Conservateurs

4.1. Chaque réactif latex et réactif de contrôle positif contient 0,1 % d'azoture de sodium, nocif en cas d'ingurgitation.

4.2. L'enzyme d'extraction contient 1,7 % de thiomersal et de l'achromopeptidase à 7,32 %, classée comme substance toxique et agent sensibilisateur.

T Toxique

R33	Danger d'effets cumulatifs.
R22	Nocif en cas d'ingestion.
R23/24/25	Toxique par inhalation, par contact avec la peau et par ingestion.
R42/43	Peut entraîner une sensibilisation par inhalation et par contact avec la peau.
R52/53	Nocif pour les organismes aquatiques, peut entraîner des effets néfastes à long terme pour l'environnement aquatique.
S22	Ne pas respirer les poussières.
S36/37	Porter un vêtement de protection et des gants appropriés.

5. CONSERVATION

A. Suspensions de latex

Conserver les réactifs en position verticale à 2-8°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur les flacons.

B. Enzyme d'extraction

Conserver le réactif lyophilisé à 2-25°C jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.

Après reconstitution avec l'eau distillée, il se conserve 4 mois à 2-8°C.

C. Témoin positif

Conserver le réactif jusqu'à la date d'expiration indiquée sur le flacon.

6. PRÉPARATION DE L'EXTRAIT

Ensemencer l'échantillon sur gélose au sang et incuber une nuit à 37°C. Noter les réactions hémolytiques des colonies suspectes.

Il est également recommandé d'effectuer une coloration de Gram et une recherche de catalase pour confirmer la présence de cocci gram positif et catalase négative.

Pour de plus amples renseignements, consulter les documents habituels.[2]

Pour chaque culture devant être groupée:

6.1. Reconstituer un flacon d'enzyme d'extraction OXOID (DR593) avec le volume d'eau distillée indiquée sur l'étiquette. Identifier les tubes et ajouter dans chacun 0,4 ml d'enzyme.

6.2. Prélever 2-5 colonies (équivalent à 2-3mm de croissance) à l'aide d'une oese et les émulsionner dans l'enzyme d'extraction avec une anse de platine et les émulsionner dans la solution enzymatique.Si la culture n'est pas pure, éviter de prélever les contaminants évidents.

6.3. Incuber 10 minutes à 37°C dans le bain marie (après 5 minutes d'incubation, il est important d'agiter vigoureusement chacun des tubes pendant 2 à 3 secondes avant de poursuivre l'incubation). Retirer les tubes et les laisser refroidir à température ambiente. L'extrait est alors prêt à être utilisé.

7. MODE OPÉRATOIRE

7.1. Ramener les latex à température ambiante en les réchauffant dans la main. Bien homogénéiser les suspensions de latex en les agitant vigoureusement, après avoir chassé les particules de latex du bouchon compte-gouttes.

7.2. Déposer une goutte de chaque réactif au latex sur les cercles de la carte (DR 500).

7.3. Ajouter une goutte de l'extrait sur chacun des six cercles avec une pipette Pasteur.

7.4. Mélanger, avec les agitateurs fournis, le contenu de chaque cercle en utilisant toute sa surface (utiliser un agitateur différent pour chaque cercle).

7.5. Imprimer un mouvement de rotation douce à la carte. L'agglutination sur un ou plusieurs cercles doit normalement apparaître en 30 secondes. Ne pas prolonger la rotation plus d'une minute.Ne pas utiliser de loupe pour faciliter la lecture.

7.6. Le témoin positif doit être utilisé de la même manière pour vérifier les suspensions de latex.

7.7. Eliminer la carte dans une solution désinfectante.

N.B. Si on n'utilise pas toute la carte en une seule fois, on peut couper celle-ci avec des ciseaux et conserver la partie inutilisée pour un usage ultérieur.

8. INTERPRÉTATION

La réaction est positive si une agglutination apparaît avec un des réactifs ou si celle-ci est plus importante avec un des réactifs qu'avec les cinq autres. Si aucune agglutination n'apparaît, la réaction est négative. Ne pas tenir compte de légères traces d'agglutinations pouvant apparaître dans les réactions négatives.

9. LIMITES DU TEST

Des résultants faussement négatifs peuvent survenir si la quantité de culture bactérienne prélevée est incorrecte.

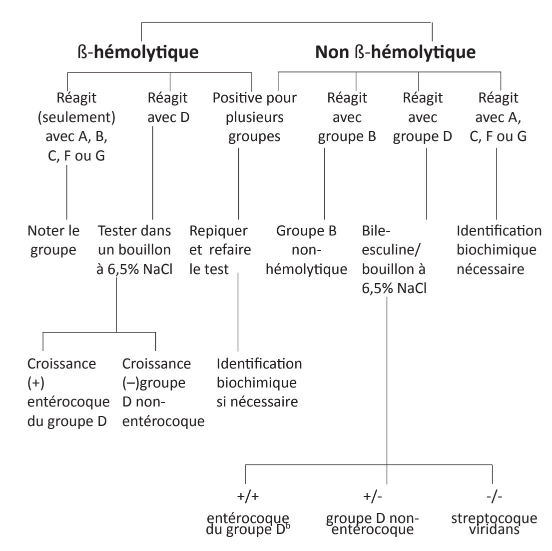
Presque tous les streptocoques bètahémolytiques isolés d'infections humaines possèdent des antigènes spécifiques polysaccharidiques mis en évidence par des réactions sérologiques.

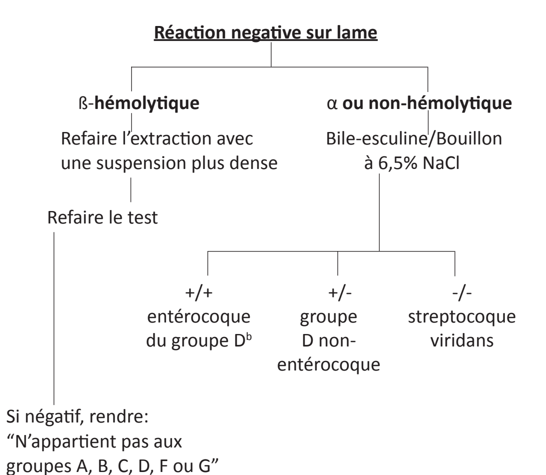
Les essais pour étendre ce procédé aux streptocoques non hémolytiques ont été un échec sauf pour les groupes B, D et N. Lesstreptocoques du groupe N ne sont pas rencontrés en pathologie humaine.[5]

Les latex du groupe D peut ne pas réagir avec certaines souches de *S. bovis* pour lesquelles d'autres tests d'identification sont nécessaires.

Le diagramme ci-dessous décrit la méthode recommandée pour indentifier les streptocoques avec le coffret OXOID.

Réaction positive sur lame





Quand on réalise une identification sérologique des streptocoques, observer d'abord: (i) l'hémolyse;[a,c] (ii) la morphologie des cellules;[b,c] (iii) la pureté et l'importance de la culture.[d]

(a) Exclure *S. pneumoniae*. Ce streptocoque est α-hémolytique, soluble dans la bile et sensible à l'optochine. Les autres streptocoques ne sont pas solubles dans la bile et sont résistants à l'optochine.[5]

(b) Les aérocoques ne sont pas ß-hémolytiques, poussent dans un bouillon à 6,5% de NaCl et donnent des réactions variables dans le test à la bile-esculine. Ils se présentent en tétrades ou isolés, ce qui les différence des entérococques qui sont en diplocoques ou en chaînes courtes.[5]

(c) Les staphylocoques et *Listeria monocytogenes* sont ß-hémolytiques et se distinguent des streptocoques par leur morphologie cellulaire et la réaction de la catalase.[6,7]

(d) Repiquer, si la croissance du germe est trop importante ou insuffisante.

(e) Des souches qui paraissent avoir les antigènes D et G ont été trouvées.[4]

Performances

La formulation du réactif d'extraction enzymatique a récemment été améliorée. Les performances du coffret de groupage des streptocoques Oxoid avec la nouvelle enzyme a été évaluée dans un centre d'essai en Australie du sud. Le tableau suivant indique les résultats obtenus:

Sensibilité et spécificité des kits de groupage des streptocoques

Souches testées*		Coffret de groupage des streptocoques et réactif d'extraction enzymatique **ORIGINAL**		Coffret de groupage des streptocoques et réactif d'extraction enzymatique **AMELIORE**		Coffret concurrentiel	
Groupe de Lancefield	No.	Sensibilité %	Spécificité %	Sensibilité %	Spécificité %	Sensibilité %	Spécificité %
Aucun	56	NA	99.4	NA	99.1	NA	99.4
A	30	100	100	100	100	100	100
B	29	100	100	100	100	100	100
C	30	96.6	99.5	96.6	99.5	96.6	99.5
[1]D (Streptocoques) [1]D (autres germes)	2 47	83.7	100	92.0	99.7	63.3	100
F	25	92.0	99.4	92.0	99.4	92.0	99.4
G	32	100	94.7	100	95.2	100	96.0
TOTAL	251	94.3	98.9	96.4	98.9	89.2	99.2

* Toutes les souches ont été testées avec chacun des six réactifs de groupage

[1] Un certain nombre de souches du groupe D de Lancefield a donné une réaction D/G.Ces résultats ont été inclus en tant que souches du goupe D vrai positifs et souches du groupe G faux positifs. Il est reconnu dans la littérature qu'il existe des souches du groupe D qui expriment des antigènes du groupe G après extraction enzymatique.

References

1. Lancefield R.C. (1938) Proc. Soc. Exp. Bio. Med. **38**, 473.

2. Facklam R.R. (1980) in 'Manual of Clinical Microbiology', 3rd Edition. American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 88-110.

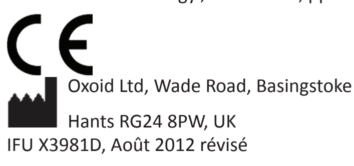
3. McIllmurray M.B. (1984) Lancet, **I**, 1353.

4. Birch B.R., Keaney M.G.L. and Ganguli L.A. (1984) Lancet, **I**, 856-857.

5. Facklam R.R. and Carey R.B. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition. Eds. Lennette E.H., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J., Amer. Soc. for Microbiol., Washington, D.C., pp. 154-175.

6. Kloos W.E. and Jorgensen J.H. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 143-153.

7. Bortolussi R., Schlech W.F. and Albritton W.L. (1985) in 'Manual of Clinical Microbiology', 4th Edition, pp. 205-208.



Oxoid Ltd, Wade Road, Basingstoke

Hants RG24 8PW, UK

IFU X3981D, Août 2012 révisé

Pour toute assistance technique, veuillez contacter votre distributeur local